



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士（薬学）
報告番号	甲第1439号
学位記番号	第300号
氏名	片岡 智哉
授与年月日	平成 26 年 3 月 25 日
学位論文の題名	勃起障害に対する Androgen 補充療法の有効性の研究
論文審査担当者	主査： 藤井 聡 副査： 木村 和哲，林 秀敏，今泉 祐治

勃起障害に対する Androgen 補充療法の有効性の研究

片岡 智哉

医療の進歩に伴い高齢化がもたらされ、中高年男性の QOL に注目が集まっている。本邦でも 2007 年に『加齢男性性腺機能低下症候群 (LOH 症候群) 診療の手引き』が出版され、男性性機能と Androgen との関連性が注目されるようになった。Androgen が男性性機能にとって重要であることは古くから知られており、主な Androgen である Testosterone の低下によって勃起障害 (erectile dysfunction; ED) が引き起こされ、一般に内分泌性 ED と呼ばれる。近年では、2 型糖尿病患者や中高年男性において、内臓脂肪が増加することで炎症性サイトカインや Leptin などが Testosterone の産生機構を抑制し、Testosterone 値を低下させるとの報告もあるが (図 1)、内分泌性 ED が発症するメカニズムは未だ完全には解明されていない。

勃起時には性的刺激が加わり、一酸化窒素 (nitric oxide; NO) 作動性神経および内皮細胞の NO 合成酵素 (NO synthase; NOS) により NO が合成、放出される。陰茎海綿体内では cGMP/PKG (cyclic guanosine monophosphate/protein kinase G) 経路が活性化され、海綿体平滑筋が弛緩し、海綿体動脈からの血液流入量が増大する。それにより陰茎海綿体が膨張し、内圧を上昇させることで勃起を引き起こす。

ED の薬物治療としては cGMP の分解酵素である phosphodiesterase 5 (PDE-5) を阻害する PDE-5 阻害剤が第一選択薬であるが、高齢者や糖尿病患者では PDE-5 阻害剤の無効例が多い。これらの患者では共通して Testosterone 値が低下しており、Androgen 補充療法 (androgen replacement therapy; ART) が施行される場合がある。しかし、その治療効果を示す臨床報告は散見されるが、その機序は解明されていない。

本研究では LOH 症候群をはじめ性ホルモンに関連した内分泌性 ED の治療に応用できるよう、種々の内分泌性 ED モデルラットを用い、勃起機能に対する ART の有効性を検討し、その作用メカニズムの解明を試みた。

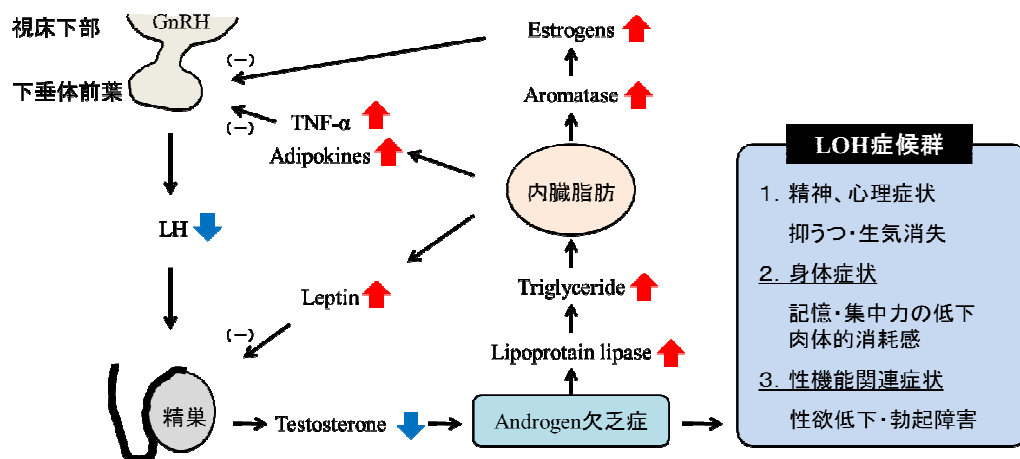


図 1. 内臓脂肪と Androgen 欠乏症・LOH 症候群の関連

第一章：過剰な Estrogen レベルによる Androgen 低下に伴う勃起障害に対する ART の検討

1. 過剰な Estrogen レベルによる Androgen 低下と勃起機能の関係

Estrogen は Androgen がアロマターゼにより代謝されることで生じ、Estrogen が増加すると視床下部からの性腺刺激ホルモンの放出をネガティブフィードバックにより抑制し、Androgen の産生量が減少する。このように生体内の性ホルモンはバランスよく制御されている。しかし近年、種々の疾患により Estrogen の産生が過剰になり、性ホルモンのバランスが崩れ、ED を発症することが報告されている。本研究では過剰な Estrogen レベルにより Androgen の低下が引き起こされた場合に ART が有効であるかを検討した。

2. Estrogen 投与による ED モデルラットの確立

13 週齢雄性 Wistar-ST ラットに対して Estrogen として estradiol (3 μ g/kg/day) を 2 週間皮下投与したところ、Testosterone 値の有意な低下が見られた (Estrogen 投与群: 0.90 ± 0.12 ng/mL, Control 群: 1.20 ± 0.13 ng/mL)。コントロール群には溶媒のみを投与したラットを用いた。海綿体神経を電気刺激して勃起を誘起し、海綿体内圧 (intracavernosal pressure; ICP) および平均血圧 (mean arterial pressure; MAP) をそれぞれ陰茎脚および左頸動脈よりモニターし、ICP と MAP の比 (ICP/MAP) を算出し、勃起機能評価に用いた。その結果、Estrogen を投与したラットの ICP/MAP は低下しており、Estrogen を投与したラットでは ED を発症することを明らかとした。

3. 過剰な Estrogen レベルによる ED 発症ラットに対する ART の効果

前述の ED モデルラットに対し、Testosterone (3 mg/kg/day) を 2 週間皮下投与し ART を行い、観察期間終了後、勃起機能の評価した。ART を行っても ICP/MAP の有意な改善は見られなかった(図 1)。

陰茎海綿体の平滑筋機能に着目し、Isometric Tension Study による張力測定を行った。その結果、Estrogen 投与群では NO 供与体である sodium nitroprusside に対する弛緩反応の低下が見られた。さら

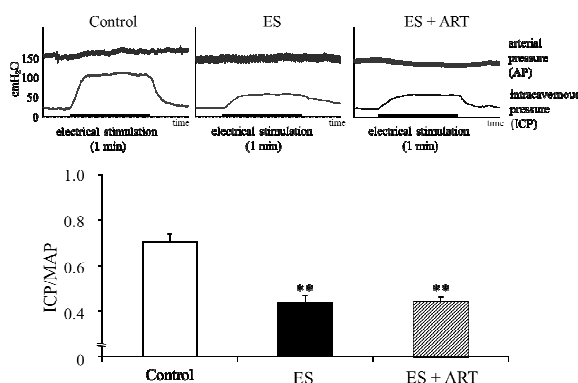


図 2. ICP 測定による勃起機能評価

上段：海綿体神経電気刺激時のチャート

下段：各群における ICP/MAP

Control; コントロール群, ES; Estrogen 投与群

ES + ART; ART 施行群 ** $P < 0.01$ vs. Control

に Estrogen 投与群では noradrenaline に対する収縮反応の亢進が見られ、Rho-kinase 阻害薬に対する反応性の亢進も見られた。一方、ART を行っても SNP に対する弛緩反応の改善は見られず、NA に対する収縮反応および Rho-kinase 阻害剤に対する反応性に変化はみられなかった。

以上の結果より、Estrogen の増加は Testosterone 値を低下させるだけでなく、Rho-kinase 経路を亢進し海綿体平滑筋の弛緩反応を低下させることでも ED を発症させることが示唆された。この Estrogen による機能低下は ART によっても回復せず、ART を施行する際には、Estrogen 値に注意する必要があると考えられる。

第二章：2型糖尿病を伴うモデルラットにおける Androgen 低下時の勃起障害に対する ART の効果

1. 2型糖尿病による Androgen 低下と勃起機能の関係

糖尿病患者での ED 有病率は健常者と比べ 2~4 倍高いとの報告があり、糖尿病は ED の重大なリスクファクターのひとつと考えられている。また、糖尿病を有する ED 患者に対する PDE-5 阻害薬の有効率は非糖尿病 ED 患者よりも低く、より有効な治療法の確立が望まれている。近年では、肥満者や 2 型糖尿病患者では Androgen が低下しているとの報告もあり、PDE-5 阻害薬の無効例には ART が施行されることがある。しかし、これまで詳細にメカニズムを検討した報告はほとんどなく、ART の効果を解明することが必要とされている。本研究では過食により 2 型糖尿病を発症する Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラットに対する ART の効果を検討した。

2. OLETF ラットによる ED モデルラットの確立

2 型糖尿病モデルとして OLETF ラットを用い、コントロールとして Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO) ラットを用いて検討を行った。ラットは 4 週齢より飼育し、10 週齢より 5 週間ごとに血糖値の測定を行った。OLETF ラットでは LETO ラットと比べて 5 週齢の時点より体重が有意に高く、20 週齢で有意に血糖値が上昇し、2 型糖尿病を発症した。さらに OLETF ラットでは Testosterone 値の有意な低下が見られた (OLETF 群: 0.96 ± 0.14 ng/mL, LETO 群: 1.98 ± 0.07 ng/mL)。25 週齢の時点で ICP 測定を行ったところ、OLETF ラットでは ICP/MAP が有意に低下しており、ED を発症していた。

3. OLETF ラットに対する ART の効果

OLETF ラットに対し、20 週齢の時点より 5 週間 Testosterone (3 mg/kg/day) を皮下投与し ART を行った。ART では体重に変化はなかったが、グリコヘモグロビン (HbA1c) や総コレステロール値の改善が見られた。

観察期間終了後、ICP 測定により勃起機能の評価したところ、ART により ICP/MAP が有意に上昇しており、ART による勃起機能の改善が見られた (図 3)。

海綿体内皮機能の評価するため、Isometric tension study を用いてアセチルコリン (ACh) に対する平滑筋の反応性を検討したところ、OLETF ラットで平滑筋の弛緩反応の低下が見られたが、ART により有意な改善が見られた。2 型糖尿病により内皮機能が低下したが、ART により内皮機能の回復が見られた。

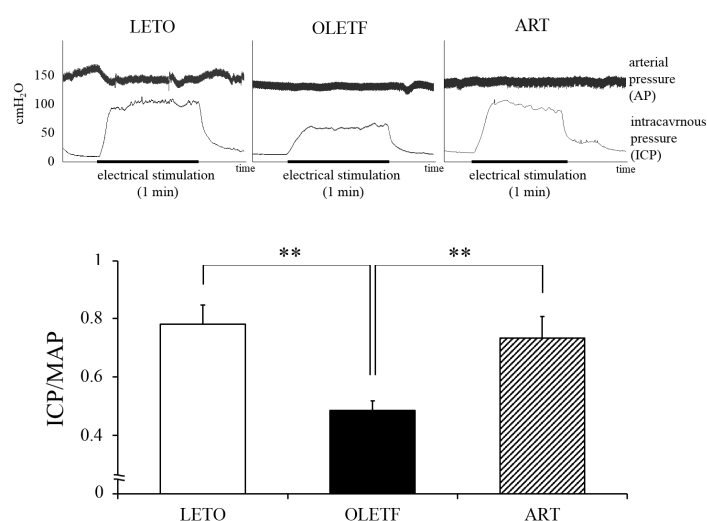


図 3. ICP 測定による勃起機能評価

上段：海綿体神経電気刺激時のチャート

下段：各群における ICP/MAP

OLETF + ART; ART 施行群

** $P < 0.01$

組織構造への影響を評価するため、Masson's trichrome 染色を用いて組織学的に検討した。Masson's trichrome 染色法では平滑筋 (smooth muscle; SM)と膠原繊維 (collagen) を染め分けることができるので、面積比 (SM/collagen)を算出し組織構造の評価に用いた。OLETF ラットでは SM/collagen が有意に低下しており、組織障害が生じていた (図 4)。一方、ART によって SM/collagen が有意に上昇しており、組織障害の改善が示唆された。

陰茎海綿体内の内皮機能障害および組織障害発生のメカニズムを検討するため、reverse transcription-polymerase chain reaction 法を用いて NOS 関連因子および炎症関連因子を検討した (図 5)。OLETF ラットでは eNOS と Sirt 1 の発現の低下が見られ、iNOS、IL-6 および TNF- α の発現の上昇が見られた。一方、ART によって eNOS と Sirt 1 は有意に上昇し、iNOS、IL-6 および TNF- α は有意な低下が見られた。

以上の結果より、OLETF ラットでは糖尿病および高コレステロール血症に加えて Androgen 欠乏症ならびに ED も発症していることがわかった。高血糖や高コレステロールにより、陰茎海綿体内に iNOS や IL-6、TNF- α などの炎症物質が産生され、内皮細胞や平滑筋に障害を加え線維化を引き起こしたと考えられる。また、eNOS の発現も低下させ、NO の産生を減少させ、内皮機能障害を引き起こし、勃起機能を低下させたと考えられる。一方、ART によって HbA1c や総コレステロール値は改善し、炎症物質の産生も抑制した。また、ART では eNOS や Sirt 1 の発現も改善しており、eNOS/Sirt 1 経路の活性化による組織炎症の抑制ももたらされたと考えられる。これらの Testosterone による作用により、組織構造の改善や血管内皮機能の改善がもたらされ、OLETF ラットの勃起機能が改善したものと考えられる。

2 型糖尿病や脂質異常症などの生活習慣病に対する治療は食事療法や運動療法が基本になるが、Androgen 欠乏症や ED を合併している場合には ART を行うことで、より効果的な治療を行うことができると考えられる。

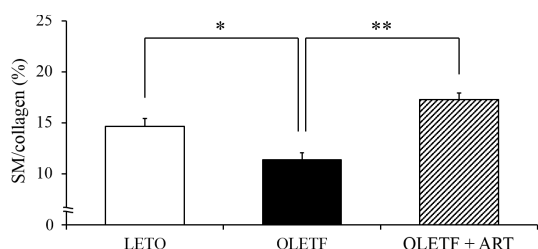
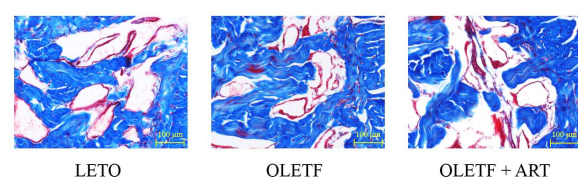


図 4. Masson's trichrome 染色による組織評価

上段：陰茎海綿体の写真

下段：各群における SM/collagen

OLETF + ART; ART 施行群

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

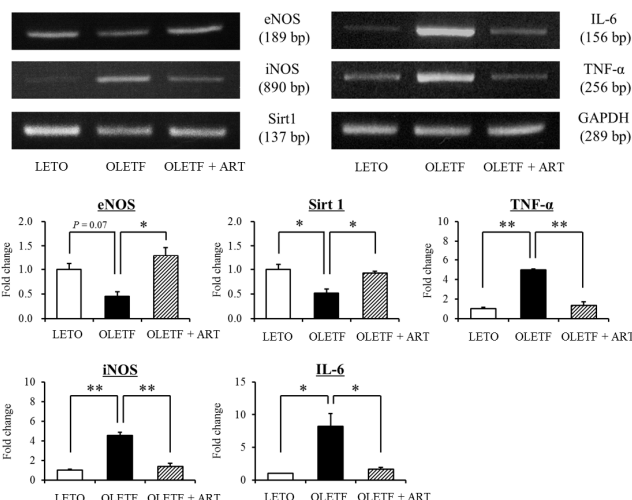


図 5. RT-PCR 法による mRNA 発現解析

上段：RT-PCR による電気泳動写真

下段：各群における mRNA 発現解析

OLETF + ART; ART 施行群

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

第三章：去勢ラットにおける Androgen 低下時の勃起機能に対する ART の効果

論文投稿中内容を一部含み、多重投稿を回避する為、公開を保留します。

総括

1. 過剰な Estrogen レベルにより Androgen の低下および ED を発症した。高 Estrogen 状態では、ART を施行しても ED は改善しなかった。陰茎海綿体内において高 Estrogen 状態では、Rho-kinase 経路が亢進し平滑筋の弛緩反応が阻害され、ART の効果も阻害されることが示唆された。
2. 2 型糖尿病モデルでは Androgen 欠乏症が引き起こされ ED を発症した。ART を施行すると組織炎症を抑制し、陰茎海綿体の内皮機能障害および組織構造を改善し、勃起機能が改善した。
3. 論文投稿中内容を一部含み、多重投稿を回避する為、公開を保留します。

結論

2 型糖尿病に起因する Androgen 欠乏症の場合や去勢による単純な Androgen 欠乏症による勃起障害に対して ART は勃起機能を改善するが、高 Estrogen 状態を伴う Androgen 欠乏症の場合には ART が奏功しなかった。そのため、ART を施行する際には Androgen 以外の性ホルモンなどの因子にも注意することが必要であると考えられる。

(基礎となる報文)

1. Kataoka T., Hotta Y., Ohno M., Maeda Y. and Kimura K.
Limited Effect of Testosterone Treatment for Erectile Dysfunction Caused by High Estrogen Levels in Rats
Int. J. Impot. Res. **25**, 201-205 (2013).
2. Kataoka T., Hotta Y., Maeda Y. and Kimura K.
Assessment of Androgen Replacement Therapy on Erectile Function in Rats with Type 2 Diabetes Mellitus by Examining Nitric Oxide-related and Inflammatory Factors
J. Sex. Med. (in press).
3. Kataoka T., Hotta Y., Maeda Y. and Kimura K.
Influences of testosterone deficiency on asymmetric dimethylarginine via oxidative stress and inflammation in castrated rats
(in submission)

(参考論文)

1. Hotta Y., Ohno R., Kataoka T., Mikumo M., Takahata Y., Ohno M., Maeda Y. and Kimura K.
Effects of Chronic Vardenafil Treatment Persist After End of Treatment in Rats with Acute Arteriogenic Erectile Dysfunction
J. Sex. Med., **9**, 1782-1788 (2012)
2. Hotta Y., Shiota A., Kataoka T., Motonari M., Maeda Y., Morita M. and Kimura K.
Oral L-citrulline Supplementation Improves Erectile Function and Penile Structure in Castrated Rats
Int. J. Urol. (in press)